

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929.

N° 8.

SUR LA COMPOSITION DE QUELQUES PLANTES

RENFERMANT UN

Glucoside à Salicylate de Méthyle

LE MONOTROPITOSIDE ET LE VIOLUTOSIDE

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le

1929.

PAR

Paul-Robert PICARD

PHARMACIEN

EX-INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

JURY

MM. BOUGAULT, Président,
BRIDEL, Professeur,
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1929

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929.

N° 8.

SUR LA COMPOSITION DE QUELQUES PLANTES

RENFERMANT UN

Glucoside à Salicylate de Méthyle

LE MONOTROPITOSIDE ET LE VIOLUTOSIDE

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le

1929.

PAR

Paul-Robert PICARD

PHARMACIEN

EX-INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS.

JURY

MM. BOUGAULT, Président,
BRIDEL, Professeur,
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1929

PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *, I.
 PERROT, Assesseur, O. *, I.
 G. DURSANT, Secrétaire, *, I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. *, I.....	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. *, I.....	Chimie organique.
PERROT, O. *, I.....	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIERE, O. *, I.....	Zoologie.
GRIMBERT, *, I.....	Chimie biologique.
LEBEAU, O. *, I.....	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. *, I....	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, *, I.....	Toxicologie.
BOUGAULT, *, I.....	Chimie analytique.
GORIS, *, I.....	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *, I.....	Botanique générale.
TASSILLY, *, I.....	Physique.
N.....	Chimie minérale.

Professeurs honoraires : MM. MOUREU, G. O. *, I. et A. VILLIERS, *, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. DAMIENS, *, I.....	Minéralogie.
Marc HONNORAT, *, I....	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, *, I....	Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, *, I.	MM. HÉRISSEY, *, I.	MM. FABRE, A.
DAMIENS, *, I.	DELABY, *, A.	MASCRÉ, I.
LUTZ, *, I.	PICON, I.	FLEURY, I.
LAUNOY, O. *, I.		BACH, I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, I.....	Chimie générale.
SOMMELET, *, I, FABRE, A, agrégés, chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, I.....	Micrographie
LEROUX I.....	Physique.
DEVAL, I.....	Microbiologie.
HÉRISSEY, *, I DELABY, *, A. et PICON, I, agrégés, chargés des Travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M BEAULIEUX, I.



A MONSIEUR J. BOUGAULT,

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS,
PHARMACIEN EN CHEF DE L'HÔPITAL DE LA CHARITÉ,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543729_0044

A MONSIEUR M. BRIDEL,

PROFESSEUR AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE,
PHARMACIEN EN CHEF DE L'HÔPITAL LARIBOSIÈRE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.

INTRODUCTION.

M. M. BRIDEL ayant trouvé le monotropitoside, glucoside à salicylate de méthyle, dans cinq espèces de plantes appartenant à trois familles différentes : *Monotropa Hypopitys* L., *Betula lenta* L., *Spiræa Ulmaria* L., *S. Filipendula* L., et *S. gigantea* var. *rosea*, il semblait qu'on pouvait le considérer comme le glucoside générateur de l'éther méthylsalicylique dans de nombreuses espèces végétales où la présence de ce principe a été démontrée. J'avais entrepris de caractériser ce glucoside dans le *Polygala vulgaris* L. et quelques espèces du genre *Viola* en leur appliquant la méthode biochimique de recherches à l'invertine, l'émulsine et la poudre fermentaire de *Primula elatior* L., ou de *Cornus sanguinea* L., qui renferment la primevérosidase, ferment possédant la propriété d'hydrolyser les primevérosides. J'avais entrepris également de l'extraire par le procédé indiqué par M. M. BRIDEL. Mais je n'ai pas pu extraire le monotropitoside : dans les racines du *Polygala vulgaris* L., le glucoside à salicylate de méthyle existe en si faible proportion, qu'il aurait fallu des quantités considérables de plante que je n'ai pu me procurer. Dans le *Viola cornuta* L., j'ai rencontré un glucoside à salicylate de

méthyle différent du monotropitoside, que j'ai appelé violutoside.

Mon intention était de rechercher également le monotropitoside dans le *Gaultheria procumbens* L., mais il a été impossible, au moment où ces recherches ont été effectuées (1924-25-26), d'obtenir un extrait de plante fraîche convenable. M. M. BRIDEL avait demandé à M. W. M. BILLING de lui envoyer un extrait de *Gaultheria procumbens* L., préparé en projetant la plante fraîche dans l'alcool bouillant. Cet extrait est arrivé en mauvais état. L'odeur de l'essence de Gaulthérie s'en dégagait abondamment. J'ai essayé de faire un essai biochimique sur cet extrait, mais il a montré que le glucoside était totalement hydrolysé ; il n'y avait même plus de saccharose. La déviation initiale était de $\alpha = -24'$ ($l = 2$).

Ce n'est que tout récemment, que M. M. BRIDEL et Mlle S. GRILLON ont pu se procurer cet extrait et identifier le glucoside à salicylate de méthyle du *Gaultheria procumbens* L. avec le monotropitoside.

Dans le premier Chapitre, on trouvera un résumé des travaux antérieurs sur les glucosides à éther méthylsalicylique.

Dans le second Chapitre, je donne le résultat des essais biochimiques de quelques plantes à salicylate de méthyle.

Le troisième Chapitre est consacré au monotropitoside, son mode d'extraction, ses propriétés, sa composition.

Le primevéroside de l'acide salicylique, obtenu en partant du monotropitoside, fera l'objet du quatrième Chapitre.

J'étudie, dans le Chapitre cinquième, le violutoside glucoside retiré du *Viola cornuta* L.

J'ai retrouvé, dans le *Polygala vulgaris* L., une substance sucrée que j'ai identifiée avec la polygalite, qui fera l'objet du sixième Chapitre.

Avant de passer à l'exposé du résultat de ce travail, je tiens à assurer M. le Professeur M. BRIDEL de toute ma gratitude. C'est lui qui, en effet, par son exemple, a su me communiquer le goût de la recherche. C'est aux conseils éclairés et aux encouragements que ce maître distingué n'a cessé de me prodiguer, que je dois d'avoir mené à bien ce travail effectué sous sa direction et auquel il s'est toujours intéressé. Je n'oublierai jamais les preuves de bienveillance qu'il m'a données en certaines circonstances et dont j'ai été profondément touché. Qu'il trouve ici toute mon admiration et l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie M. le Professeur J. BOUGAULT d'avoir accepté la présidence de cette thèse. Je lui exprime ma reconnaissance entière pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail et les judicieux conseils qu'il m'a donnés.

Que M. le Professeur agrégé H. HÉRISSEY veuille également croire à ma reconnaissance sincère pour les renseignements utiles et bienveillants qu'il m'a communiqués au cours de ce travail.

J'adresse à M. J. GALIMARD, Docteur en Pharmacie, mon maître de stage, mes sincères remerciements. C'est lui qui m'a enseigné l'amour et le respect de notre profession.

CHAPITRE PREMIER.

Les Glucosides à salicylate de méthyle.

C'est à W. PROCTER (1) que l'on doit le premier travail sur les glucosides à salicylate de méthyle. En 1843, il a d'abord démontré que l'essence de *Betula lenta* L. était identique à l'essence de Gaulthérie, produite par le *Gaultheria procumbens* L. Il a reconnu ensuite que l'écorce du *Betula lenta* L. renfermait un glucoside générateur de cette essence, qu'il n'a pas obtenu à l'état cristallisé ; mais il signale la réaction suivante : quand on ajoute de l'acide sulfurique concentré à ce produit, il y a formation d'une solution rouge et il se dégage l'odeur du salicylate de méthyle. On peut regarder cette réaction comme caractéristique du glucoside à salicylate de méthyle. PROCTER lui a donné le nom de « gaulthérine » pour rappeler qu'il donnait par hydrolyse une essence identique à l'essence de Gaulthérie.

C'est SCHNEEGANS et GEROCK qui ont réussi en 1894, à préparer la gaulthérine à l'état cristallisé (2). La gaulthé-

(1) Observations on the volatile oil of *Betula lenta*, and on gaultherin, a substance which by its decomposition yields that oil. *Amer. Journ. Pharm.*, 1843-1844, **15**, p. 241.

(2) Ueber Gaultherin ein neues glukosid aus *Betula lenta* L. *Arch. Pharm.*, 1894, **232**, p. 437.

rine cristallise en belles aiguilles, très solubles dans l'eau, moins solubles dans l'alcool. Elle possède une saveur amère, mais elle est sans odeur. Elle cristallise avec une molécule d'eau de cristallisation qu'elle perd par un séjour prolongé au-dessus de l'acide sulfurique.

Elle n'a pas de point de fusion. A $+ 100^{\circ}$ elle dégage une odeur de salicylate de méthyle ; à $+ 120^{\circ}$, elle brunit et se décompose sans fondre.

L'acide sulfurique concentré donne une coloration rose passant au brun, puis au noir. On doit remarquer que SCHNEEGANS et GEROCK ne signalent pas que le mélange dégage l'odeur de salicylate de méthyle.

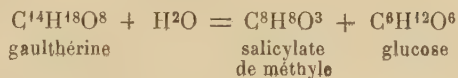
La gaulthérine est lévogyre, mais le pouvoir rotatoire exact n'est pas indiqué. Les acides dilués l'hydrolysent à chaud : il se forme un trouble laiteux qui se résout en gouttelettes huileuses tombant au fond du liquide. Le liquide d'hydrolyse est fortement réducteur. Le sucre réducteur formé n'a pas été caractérisé et les auteurs n'indiquent même pas la proportion de ce sucre réducteur que donne leur glucoside.

L'émulsine, la diastase et l'amylase sont sans action sur la gaulthérine qui est facilement hydrolysée par le ferment de l'écorce du *Betula lenta* L. L'hydrolyse a lieu également en milieu alcoolique.

Deux analyses ont été faites sur le produit hydraté. Les auteurs ont trouvé 50,31 et 50,28 pour 100 de carbone, et 5,99 et 6,22 pour 100 d'hydrogène. Ils donnent une formule de leur glucoside $C^{14}H^{20}O^9$ ($C^{14}H^{18}O^8 + H^2O$) pour laquelle il faut 50,60 pour 100 de carbone et 6,02 pour 100 d'hydrogène.

Pour SCHNEEGANS et GEROCK, la gaulthérine est formée par l'union d'une molécule de salicylate de méthyle et d'une molécule de glucose avec élimination d'une molécule d'eau et il était admis depuis cette époque jusqu'aux travaux de M. M. BRIDEL, que la formule de la gaulthérine était défi-

nitivement établie ; l'on écrivait l'équation de son hydrolyse de la façon suivante :



Les résultats obtenus dans les analyses sur le produit desséché sont pourtant moins concordants ; les auteurs ont trouvé 51,15, 51,35 et 52,32 pour 100 de carbone, alors que le produit anhydre ayant la formule admise renfermerait 53,50 pour 100 de carbone.

Il parait bien que les auteurs ont donné des conclusions dépassant leurs résultats expérimentaux.

Depuis cette époque on n'avait pas isolé d'autre glucoside à salicylate de méthyle. Mais en 1894, BOURQUELOT en avait signalé l'existence dans la racine du *Polygala vulgaris* L. (1) et en 1896 il a montré que le *Monotropa Hypopitys* L. en renfermait un qu'il n'a pu obtenir à l'état cristallisé, mais il en a démontré la présence certaine (2). C'est un glucoside lévogyre, hydrolysable par un ferment spécial contenu dans la plante, ainsi que par gaulthérase, ferment contenu dans l'écorce du *Betula lenta* L. L'émulsine est sans action sur ce glucoside. Le sucre réducteur formé par hydrolyse n'a été mis en évidence que par la réduction de la liqueur cupro-alkaline et n'a pas été déterminé. La caractérisation du salicylate de méthyle est basée sur l'odeur qui se dégage au cours de l'hydrolyse, sur son extraction par l'éther du liquide d'hydrolyse et sur la coloration violette que fournit, sous l'action du perchlorure de fer, le produit provenant de l'évaporation de la solution éthérée.

(1) BOURQUELOT. — Sur la présence de l'éther méthylsalicylique dans quelques plantes indigènes. *Journ. Pharm. et Chim.*, 5^e s., 30, p. 433, et *C. R.*, 119, p. 802.

(2) BOURQUELOT. — Sur la présence dans le *Monotropa Hypopitys* L., d'un glucoside de l'éther méthylsalicylique et sur le ferment hydrolysant de ce glucoside. *Journ. Pharm. Chim.*, 6^e sér., 1896, 3, p. 577.

Comme les plantes qui hydrolysent le glucoside du *Monotropa Hypopitys* L. hydrolysent également le glucoside du *Betula lenta* L., la gauthérine, BOURQUELOT a pensé à l'identité de ces deux principes ; mais, pour lui, cette question ne pourra être décidée que lorsque l'on aura obtenu le glucoside du *Monotropa Hypopitys* L. à l'état cristallisé et pur.

C'est ce problème que M. M. BRIDEL a réussi à mettre au point : il isola à l'état cristallisé, en 1923, le glucoside à salicylate de méthyle du *Monotropa Hypopitys* L. (1), le monotropitoside, formé par l'union de l'éther méthylsalicylique avec le glucose et le xylose, les deux sucres étant unis sous forme de primevérose. L'étude de ce glucoside fera l'objet d'un chapitre suivant. Il a retrouvé ce même glucoside dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L. (2) et montré ainsi que la formule du dédoublement de la gauthérine de SCHNEEGANS et GEROCK n'est pas exacte : la gauthérine formée de l'union d'une molécule de glucose avec une molécule de salicylate de méthyle avec élimination d'eau, n'existe pas dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L.

M. M. BRIDEL a retrouvé le monotropitoside dans les racines fraîches de trois espèces de Spirées, *Spiræa Ulmaria* L., *Spiræa Filipendula* L., *Spiræa gigantea* var. *rosea* (3). Il y avait de longues années que l'on savait que les racines des Spirées dégagent, quand on les froisse,

(1) M. BRIDEL. — Etude biochimique sur la composition du *Monotropa Hypopitys* L., 2^e mémoire : Obtention d'un nouveau glucoside à salicylate de méthyle, la monotropitine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, 5, n° 10, p. 198.

(2) M. BRIDEL. — Sur la véritable nature du glucoside à salicylate de méthyle existant dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, 6, p. 659.

(3) M. BRIDEL. — Sur la présence de la monotropitine dans les racines fraîches de trois espèces de Spirées : *Spiræa Ulmaria* L., *S. Filipendula* L., *S. gigantea* var. *rosea*, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, 6, p. 679.

une odeur de salicylate de méthyle. BIGELOW (1) en 1818 a déjà signalé que l'odeur aromatique du *Gaultheria procumbens* L. se retrouve dans la racine de *Spiræa lobata* L. Ce n'est qu'en 1874 que des recherches ont été faites dans le but de préciser la nature de l'essence des racines de *Spiræa Ulmaria* L. NIETZKI (2) a distillé dans ce but 10 kg. de racine fraîche. Il a obtenu à peine un gramme d'essence plus dense que l'eau dans laquelle il a caractérisé l'acide salicylique et l'alcool méthylique, et il en a conclu à la présence du salicylate de méthyle.

SCHNEEGANS et GEROCK (3) en 1892, ont donné sur cette question un long mémoire dont il n'y a rien à retenir.

En 1899, BEIJERINCK (4) avait tenté un essai d'extraction du glucoside à salicylate de méthyle, qu'il pensait exister dans les racines de Spirées. Il n'a pas réussi dans la tentative. Il n'a pu obtenir qu'un produit amorphe. Malgré cet insuccès, il n'en conclut pas moins que ce glucoside est identique à la gaulthérine de SCHNEEGANS et GEROCK.

Le monotropitose a donc été extrait par M. M. BRIDEL de cinq espèces de plantes appartenant à trois familles différentes : *Monotropa Hypopitys* L., *Betula lenta* L., *Spiræa Ulmaria* L., *S. Filipendula* L., *S. gigantea* var. *rosea*. M. M. BRIDEL et Mlle S. GRILLON viennent encore de l'obtenir d'un extrait préparé avec le *Gaultheria procumbens* L. frais (5). Cette plante en fournit six grammes

(1) BIGELOW. — *Amer. Med. Botany*, 1818, 2, p. 28, Boston ; d'après J. U. LLOYD, Oil of gaultheria. *Pharm. Review*, 1898, 16, p. 176.

(2) NIETZKI. — Ueber das ätherische oel der Wurzel von *Spiræa Ulmaria*. *Arch. Pharm.*, 1874, 204, p. 429.

(3) Ueber *Spiræa Ulmaria*. *Journ. Pharm. von Els. Lothr.*, 1892, 19 p. 3 et 55.

(4) Ueber Glukoside und Enzyme in den Wurzehr einiger Spiræarten. *Centralb. für Balter Parasiten Kunde und Infections krankheiten*, 2^e s., 1899, 5, p. 425.

(5) M. BRIDEL et Mlle S. GRILLON. — Le glucoside à salicylate de méthyle du *Gaultheria procumbens* L. est le monotropitose. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, 10, p. 1326.

par kilogramme. Il semblait donc qu'on pouvait le considérer comme le glucoside générateur du salicylate de méthyle dans de nombreuses espèces végétales où la présence de cet éther salicylique a été démontrée. C'est dans ce but que nous avons entrepris ce travail en appliquant le procédé d'extraction indiqué par M. M. BRIDEL à une série de plantes renfermant du salicylate de méthyle : *Polygala vulgaris* L., diverses espèces de *Viola* (*V. tricolor arvensis* L., *V. gracilis* L., *V. cornuta* L.). Mais la trop faible quantité de glucoside renfermée par la racine du *Polygala vulgaris* L. (1) n'a pas permis son extraction.

Dans le *Viola cornuta* L. (2), nous avons rencontré un autre glucoside, le *violutoside* qui semble donner par hydrolyse du vicianose au lieu de primevérose.

A noter aussi que M. A. DESMOULIÈRE avait signalé en 1904 la présence du salicylate de méthyle à l'état glucosidique dans différentes espèces de *Viola*, en particulier dans le *Viola tricolor arvensis* L. (3). Il n'a pu réussir à isoler ce glucoside. Avant lui, MANDELIN, en 1882 avait caractérisé l'acide salicylique dans un certain nombre d'espèces du genre *Viola* (*V. tricolor* L., *V. tricolor arvensis* L., *V. syrtica*, *V. odorata*, etc) mais il avait remarqué qu'on n'y rencontrerait pas son éther méthylique (4).

Il existe un autre glucoside à salicylate de méthyle qui a été préparé synthétiquement, en 1920, par KARRER et

(1) P. PICARD. — Sur la présence de la polygalite dans les tiges foliées du *Polygala vulgaris* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, p. 692.

(2) P. PICARD. — Le violutoside, nouveau glucoside à salicylate de méthyle retiré du *Viola cornuta* L., *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, 8, p. 568.

(3) A. DESMOULIÈRE. — Sur la présence normale d'acide salicylique dans un certain nombre de plantes de la famille des Violacées et dans le Souci, les Cerises et les Merises. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1904, 6^e s., 19, p. 121.

(4) *Pharmaceutical Journal and Transactions*, 1881, 82, p. 627.

WEIDMANN (1). En faisant agir le diazométhane sur une solution alcoolique froide du glucoside de l'acide salicylique (obtenu synthétiquement), ces auteurs ont préparé l'éther méthylique de ce glucoside, cristallisant en lamelles renfermant une molécule d'alcool de cristallisation et fondant à $+ 90^{\circ}$ - 92° . Débarrassé de son alcool de cristallisation par chauffage à $+ 70^{\circ}$ dans le vide, il fond à $+ 105^{\circ}$.

Son pouvoir rotatoire en solution alcoolique est $\alpha = - 53^{\circ},78$.

En se basant sur le travail de SCHNEEGANS et GEROCK sur la gaulthérine, KARRER et WEIDMANN concluent que la constitution de leur glucoside est identique à celle de la gaulthérine. Et comme leur glucoside est facilement hydrolysé par l'émulsine, alors que la gaulthérine ne l'est pas, ils lui donnent le nom de gaulthérine β en supposant que la gaulthérine naturelle est l'isomère α , ce qui était d'ailleurs assez peu vraisemblable à cause de son pouvoir rotatoire gauche.

(1) Glukoside V. Synthese des β Gaultherins, des β -Tétracétylglucosido-anthranilsaure-methylesters und des β -glucosido-resorcylassus methylläthers. *Helv. Chim. Acta*, 1920, **3**, p. 252.

CHAPITRE II.

Essais biochimiques de quelques plantes à salicylate de méthyle.

Dans les essais biochimiques effectués, j'ai fait agir successivement, l'invertine, l'émulsine, puis une poudre fermentaire obtenue soit avec le *Primula elatior* L., soit avec le *Cornus sanguinea* L. On sait en effet que ces deux plantes renferment des primevérosides ; celui du *Cornus sanguinea* L. n'a pas encore été isolé, mais M. M. BRIDEL en a signalé l'existence (1). MM. GORIS, MASCRÉ et VISCHNIAC (2) ont extrait ceux de divers *Primula*. Ces deux poudres renferment un même ferment, la primevérosidase (3), très répandu dans le règne végétal, et toujours retrouvé dans les plantes renfermant un primevéroside.

La primevérosidase possède la propriété d'hydrolyser les primevérosides en libérant le primevérose. Le primevérose est un xyloglucose réducteur, obtenu à l'état cristallisé par MM. GORIS, MASCRÉ et VISCHNIAC en 1912 (4) dans l'hydrolyse, par la poudre fermentaire de

(1) M. BRIDEL. — Le primevérose, les primevérosides et la primevérosidase. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, 7, p. 925.

(2) GORIS, MASCRÉ et VISCHNIAC. — Glucosides et essences de Primevère. *Bull. Sc. Pharm.*, 1912, 19, 589.

(3) *Loc. cit.*

(4) *Loc. cit.*

sépales de *Primula*, du mélange des deux glucosides de la racine du *Primula officinalis* L., le primevéroside et le primulavéroside.

On prépare ces poudres fermentaires en broyant au hachoir universel, les plantes fraîches et en les faisant macérer dans l'alcool pendant deux jours. On les recueille ensuite sur un filtre de BÜCHNER ; on lave à l'alcool, puis à l'éther, on sèche à l'étuve à + 30°.

I. — Essais biochimiques du *Viola cornuta* L.

J'ai effectué deux essais biochimiques, l'un en 1924, l'autre en 1925. Le premier a été fait sur des plantes fleuries privées de leurs racines, récoltées le 8 octobre 1924 à Versailles et traitées le lendemain par l'alcool bouillant. Le second sur des plantes entières fleuries, récoltées le 30 octobre 1925 à la Celle Saint-Cloud et traitées le 31 octobre par l'alcool bouillant.

Premier essai. — Les résultats suivants ont été obtenus sur un liquide aqueux dont 100 cm³ représentent 100 grammes de plante fraîche sans racine.

Rotation initiale ($l = 2$).....	+ 2°19'
— après action de l'invertine.....	+ 1°36'
— — l'émulsine.....	+ 1°36'
— — la poudre fermentaire.....	+ 1°43'
Sucre réducteur initial (pour 100 cm ³).....	0 g.,241
— après action de l'invertine.....	0 g.,635
— — l'émulsine.....	0 g.,673
— — la poudre fermentaire	0 g.,723

Sous l'action de l'invertine, la rotation droite a diminué de 43', en même temps qu'il s'est fait 0 g.,424 de sucre réducteur. L'indice de réduction enzymolytique que l'on calcule : 591, s'approche assez de celui du saccharose : 603, pour qu'on puisse affirmer sa présence.

L'action de l'émulsine a été à peu près nulle ; on ne constate en effet aucun changement de déviation, et il ne s'est formé que 0 g.,038 de sucre réducteur.

La poudre fermentaire de *Cornus sanguinea* L. a produit un retour de 7' de la déviation vers la droite et une augmentation de 0 gr.,050 de sucre réducteur, ce qui correspond à un indice de réduction enzymolytique de 428. On n'a pu constater l'odeur du salicylate de méthyle, probablement à cause de la trop petite quantité libérée.

Deuxième essai. — On a opéré sur 300 grammes de plante entière fraîche. On n'a pas fait agir l'émulsine qui n'avait paru donner aucun résultat intéressant dans l'essai précédent. On a fait une solution dont 100 cm³ correspondent à 200 grammes de plante fraîche, dans l'espoir d'obtenir des résultats plus nets que dans le premier essai.

Rotation initiale ($l = 2$).....	+ 2°18'
— . . . après action de l'invertine.....	+ 1°12'
— la poudre fermentaire....	+ 1°14'
Sucre réducteur initial (pour 100 cm ³).....	0 g.,157
— . . . après action de l'invertine.....	1 g.,055
— la poudre fermentaire.....	1 g.,163

On constatera d'abord que la déviation initiale est beaucoup moins droite que dans l'essai précédent et que la quantité initiale de sucre réducteur est beaucoup moins élevée.

Sous l'action de l'invertine, la rotation droite a diminué de 1°6' et la quantité de sucre réducteur a augmenté de 0 g.,898, ce qui fait que l'indice de réduction enzymolytique est égal à 816, tandis que dans l'essai précédent on avait trouvé 591 et s'éloigne beaucoup de celui du saccharose: 603.

La poudre fermentaire de *Cornus sanguinea* L. n'a produit qu'un retour de 2' de la rotation vers la droite et il

s'est formé 0 g.,108 de sucre réducteur. On trouve donc une quantité plus élevée de sucre réducteur pour un changement de déviation beaucoup plus faible que dans le premier essai. On n'a pas perçu non plus l'odeur du salicylate de méthyle bien qu'ayant opéré sur une solution deux fois plus concentrée.

L'essai biochimique des racines n'a donné aucun résultat intéressant.

II. — Essai biochimique du *Viola gracilis* L.

L'essai a été effectué sur des plantes entières récoltées à Versailles le 23 avril 1925 et traitées le 26 avril par l'alcool bouillant. Sur un liquide aqueux dont 100 cm³ représentent 100 g. de plante fraîche, on a obtenu les résultats suivants :

Rotation initiale.	+ 2°
— après action de l'invertine	+ 40'
— — l'émulsine.....	+ 50'
— — la poudre fermentaire...	+ 52'
Sucre réducteur initial.....	0 g.,452
— après action de l'invertine.....	1 g.,167
— — l'émulsine	1 g.,246
— — la poudre fermentaire.....	1 g.,396

Sous l'action de l'invertine, la rotation droite a diminué de 1°20', en même temps qu'il s'est fait 0 g.,715 de sucre réducteur. L'indice de réduction enzymolytique est de 535 et donc assez différent de celui du saccharose.

L'émulsine a produit un retour de la déviation vers la droite de 10' et la quantité de sucre réducteur a augmenté de 0 g.,079, soit un indice de 493.

Avec la poudre fermentaire de *Cornus sanguinea* L. le retour à droite n'a été que de 2' et il s'est formé 0 g.,064

de sucre réducteur. On n'a pas non plus perçu l'odeur du salicylate de méthyle.

III. - Essai biochimique du *Polygala vulgaris* L.

L'essai a été effectué sur des plantes fleuries privées de leurs racines, récoltées en juillet et août 1924 à Versailles, et traitées par l'alcool bouillant le lendemain de leur récolte.

Les résultats suivants ont été obtenus sur un liquide aqueux dont 100 cm³ représentent 100 g. de plante fraîche sans racine :

Rotation initiale.....	+	4°16'
— après l'action de l'invertine.....	+	3°15'
— — l'émulsine.....	+	3° 8'
— — la poudre fermentaire..	+	3°15'
Sucre réducteur initial.....	0 g.,	140
— après action de l'invertine.....	0 g.,	855
— — l'émulsine.....	0 g.,	947
— — la poudre fermentaire.....	0 g.,	991

Sous l'action de l'invertine, la rotation droite a diminué de 61', en même temps qu'il est fait 0 g.,715 de sucre réducteur. L'indice de réduction enzymolytique que l'on calcule 703 est assez éloigné de celui du saccharose : 603.

L'action de l'émulsine peut être considérée comme presque nulle ; il ne s'est fait que 0 g.,092 de sucre réducteur et la déviation droite a diminué de 7'.

La poudre fermentaire de *Primula elatior* L. a produit un léger retour de la déviation vers la droite 7' en même temps qu'il s'est formé 0 g.,044 de sucre réducteur, ce qui correspond à un indice de réduction enzymolytique de 377.

Comme pour les autres essais, on n'a pas perçu l'odeur du salicylate de méthyle.

J'ai essayé la méthode biochimique également sur le *Viola tricolor arvensis* L. (tiges fleuries), sur les racines et les plantes fleuries dépourvues de racines du *Viola odorata* L., sur le *Calendula officinalis* (racines et plantes fleuries).

Les résultats obtenus sont tout à fait comparables à ceux que je viens d'exposer et qui montrent que la méthode biochimique est incapable de nous prouver l'existence du salicylate de méthyle à l'état glucosidique dans ces plantes. Il est probable que cela provient de la trop petite quantité de ce principe. Mais la présence d'un glucoside générateur du salicylate de méthyle y est suffisamment démontrée dans la plupart d'entre elles, par ce fait que l'odeur ne se dégage qu'après avoir froissé un instant une partie de la plante. Aussi j'ai essayé l'extraction sur quelques plantes en m'appuyant sur les propriétés du glucoside à salicylate de méthyle connu, le monotropitoside.

La méthode biochimique donne cependant une indication intéressante sur la composition des tiges foliées du *Polygala vulgaris* L. La rotation initiale droite est assez élevée ($+4^{\circ}16'$) et elle reste supérieure à $+3^{\circ}$ après action de l'invertine, ce qui conduit à soupçonner l'existence d'un principe dextrogyre, autre que le saccharose, puisque l'invertine est restée sans action sur lui. C'est ce principe que nous avons réussi à extraire et sur lequel je reviendrai dans un chapitre suivant.

CHAPITRE III.

Le monotropitoside ⁽¹⁾.

Le monotropitoside (monotropitine) est le glucoside générateur du salicylate de méthyle que M. M. BRIDEL a découvert en 1923 dans le *Monotropa Hypopitys* L. (2) et qu'il a retrouvé, en 1924, dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L. (3) et dans les racines fraîches de trois espèces de Spirées : *Spiræa Ulmaria* L., *S. Filipendula* L., *S. gigantea* var. *rosea* (4). M. M. BRIDEL et Mlle S. GRILLON viennent de l'isoler du *Gaultheria procumbens* L. où il existe à raison de six grammes par kilogramme de plante fraîche (5).

Le monotropitoside est un glucoside renfermant du

(1) M. BRIDEL et P. PICARD. — Sur la préparation et les propriétés du monotropitoside. *Bull. Soc. Chim. de France*, 1925, **37**, 4^e sér., p. 1028.

(2) M. BRIDEL. — Etude biochimique sur la composition du *Monotropa Hypopitys* L., 2^e mémoire. Obtention d'un nouveau glucoside à salicylate de méthyle, la monotropitine. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1923, **5**, p. 915.

(3) M. BRIDEL. — Sur la véritable nature du glucoside à salicylate de méthyle existant dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **3**, p. 659.

(4) M. BRIDEL. — Sur la présence de la monotropitine dans les racines fraîches de trois espèces de Spirées : *Spiræa Ulmaria* L. ; *S. Filipendula* ; *S. gigantea* var. *rosea*. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1934, **6**, p. 679.

(5) M. BRIDEL et S. GRILLON. — Le glucoside à salicylate de méthyle du *Gaultheria procumbens* L. est le monotropitoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, p. 1326.

salicylate de méthyle, du glucose et du xylose, le glucose et le xylose se trouvant combinés sous forme de primevérose, comme on le verra plus loin. La teneur des plantes indigènes en monotropitoside est très faible : M. M. BRIDEL n'en a extrait que 0 g.,50 du *Monotropa Hypopitys* L. et le rendement dans les Spirées a été de :

0 g.,058	par kg.	pour l'Ulmaire.
0 g.,180	—	le <i>Spiræa gigantea</i> , var. <i>rosea</i> .
0 g.,297	—	la Filipendule.

Il en a extrait 1 g.,13 de 7.750 grammes de ces trois espèces.

Aussi il aurait été fort difficile d'en obtenir une quantité suffisante pour en faire l'étude complète.

L'écorce du *Betula lenta* L., au contraire, en renferme de grandes quantités et le procédé de préparation que nous donnons ci-dessous permet d'en retirer facilement un peu plus de 3 grammes par kilogramme d'écorce fraîche. Nous avons extrait le monotropitoside en partant de 20 kilogrammes d'écorce fraîche de *Betula lenta* L.

Préparation du monotropitoside. — Il a été préparé un extrait par M. W. M. BILLING, Directeur du Laboratoire biochimique de « The Merrel Company » de Cincinnati (Etats-Unis), de la façon suivante :

20 kilogrammes d'écorce fraîchement coupée ont été rapidement broyés, puis traités dans un percolateur par 190 litres d'alcool éthylique dénaturé par 5 pour 100 d'alcool méthylique. La température de la préparation a été de + 72° c'est-à-dire suffisante pour provoquer la destruction des ferments de l'écorce. Il y a eu, toutefois, une légère action du ferment sur le glucoside au cours du broyage de l'écorce, car il s'est dégagé, à ce moment, une odeur nette de salicylate de méthyle.

La percolation a duré quatre heures. Le liquide alcoolique qui renfermait environ un pour cent de matières fixes

a été distillé dans un appareil en cuivre, sous une pression de quinze millimètres, jusqu'à quatre litres environ, puis jusqu'à élimination complète du dissolvant.

Le traitement a été fait dans le courant du mois de décembre 1923.

L'extrait pesait 1.322 grammes et dégageait une forte odeur de salicylate de méthyle. On l'a dissous dans l'eau distillée, ce qui a éliminé une résine brune, abondante, renfermant du salicylate de méthyle et de l'acide salicylique qui a été obtenu à l'état cristallisé.

La solution aqueuse, filtrée, a été évaporée à sec, sous pression réduite et le résidu a été épuisé à cinq reprises différentes par un mélange renfermant 950 cm³ d'éther acétique hydraté et 50 cm³ d'alcool à 95°. On a employé en tout vingt fois le poids de l'extrait primitif. Les solutions éthéro-acétiques ont été évaporées à sec et le résidu a été repris par l'eau. La solution aqueuse a été déféquée à l'extrait de Saturne. Après essorage du précipité plombique volumineux, élimination de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré et nouvel essorage, on a obtenu un liquide absolument incolore qu'on a distillé à sec, sous pression réduite sans dépasser + 50°.

Le résidu qui pèse environ le dixième du poids de l'extrait primitif est dissous à l'ébullition, dans l'alcool à 95°. Le liquide est filtré bouillant et se prend par refroidissement, en une masse de cristaux qu'on essore à la trompe qu'on lave à l'alcool et à l'éther et qu'on sèche à l'air.

Par évaporation des eaux-mères, il reste un extrait qu'on dissout dans l'acétone, à l'ébullition, ce qui permet d'obtenir une nouvelle quantité de cristaux.

Le rendement s'est élevé à plus de 60 grammes pour les 20 kilogrammes d'écorce fraîche.

Purification. — Pour purifier le monotropitoside, on fait cristalliser dans l'acétone celui qui a été obtenu dans

l'alcool, et dans l'alcool à 95° celui qui a cristallisé dans l'acétone. Finalement on a effectué une cristallisation dans l'eau distillée et c'est sur le produit cristallisé dans l'eau que l'on a déterminé le point de fusion, la teneur en eau, le poids moléculaire par cryoscopie.

Propriétés physiques. — Le monotropitoside cristallisé dans l'acétone se présente en longues aiguilles, parfois réunies en houpes.

Cristallisé dans l'alcool, il se présente en aiguilles plus courtes, et dans l'eau, il cristallise en prisme assez gros pouvant atteindre 0 cm.,5 de longueur.

Il est sans odeur et possède une saveur franchement amère

Cristallisé dans l'eau, il est hydraté : 0 g.,9992 ont perdu à + 105°, 0 g.,0384, soit 3,84 pour 100. Pour le produit cristallisé dans l'acétone, la perte est légèrement plus forte, elle est de 4 06 pour 100.

Il fond au bloc MAQUENNE à + 179°,5 très nettement.

M. M. BRIDEL avait obtenu le monotropitoside une première fois sous une forme cristalline différente, renfermant 5,67 pour 100 d'eau et fondant à + 90°,5 (corr.).

Le pouvoir rotatoire du monotropitoside cristallisé dans l'eau a été trouvé de $\alpha_D = -58^{\circ},22$ ($p = 0,2061$; $v = 10$; $l = 2$; $\alpha = -2^{\circ}24'$).

Pour le produit cristallisé dans l'acétone, on a trouvé $\alpha_D = -58^{\circ},80$ ($p = 0,1984$; $v = 10$; $l = 2$; $\alpha = -2^{\circ}20'$) et pour celui qui a cristallisé dans l'alcool à 95° : $\alpha_D = -59^{\circ},22$ ($p = 0,1578$; $v = 10$; $l = 2$; $\alpha = -1^{\circ}52'$).

Soit en moyenne $\alpha_D = -58^{\circ},74$ pour le produit hydraté.

La solubilité du monotropitoside a été déterminée dans plusieurs dissolvants à la température du laboratoire (+ 18° + 20°) :

	Monotropitoside anhydre
100 g. d'eau distillée dissolvent.....	8 g.,0899
— d'alcool à 95° —	0 g.,6652
— d'alcool absolu —	0 g.,3937
— d'éther acétique anhydre dissolvent.....	0 g.,1720
— d'acétone anhydre —	0 g.,1540
— de chloroforme —	0 g.,0999
— d'éther anhydre —	0 g.,0077

On peut exprimer ces résultats sous la forme suivante :

1 g. de monotropitoside anhydre est soluble à + 18° + 20°, dans :	
12 g.,361.	d'eau distillée.
150 g.,330.	d'alcool à 95°.
254 g.,000.	d'alcool absolu.
581 g.,395.	d'éther acétique anhydre.
649 g.,350.	d'acétone anhydre.
10001 g.,001.	de chloroforme.
13698 g.,630.	d'éther anhydre.

Dans l'acétone anhydre, le monotropitoside est environ quatre fois plus soluble à l'ébullition qu'à la température ordinaire. Son meilleur dissolvant pour le faire cristalliser est l'acétone renfermant de 8 à 10 pour 100 d'eau, qui permet d'en obtenir 10 grammes par litre.

Dans l'eau bouillante, la solubilité du monotropitoside est environ trois fois plus forte que dans l'eau à la température ordinaire.

Propriétés chimiques. — Le monotropitoside en poudre se colore en rose vif par addition d'acide sulfurique concentré, il se dégage immédiatement une odeur très nette de salicylate de méthyle, perceptible avec de très faibles quantités de monotropitoside.

Le monotropitoside n'est pas réducteur. L'extrait de Saturne ne le précipite pas de ses solutions aqueuses. Il ne donne aucune coloration par addition de perchlorure de fer à la solution aqueuse,

Il est beaucoup plus soluble dans les solutions alcalines que dans l'eau.

Cette dissolution s'accompagne, à froid, de la saponification de la fonction éther méthylque, il y a formation d'alcool méthylque et du sel alcalin du glucoside de l'acide salicylique. La saponification se fait rapidement à froid comme l'indique l'expérience suivante dans laquelle on a déterminé l'indice de saponification du monotropitoside : on a dissous 1 g.,0087 de monotropitoside hydraté dans q. s. de solution titrée de potasse pour faire 20 cm³ (19 cm³,3). On a déterminé immédiatement le pouvoir rotatoire. On a trouvé $\alpha_D = -51^{\circ},88$ ($\alpha = -5^{\circ}14'$; $l = 2$) au lieu de $\alpha_D = -58^{\circ},80$, dans l'eau distillée. Le pouvoir rotatoire a baissé légèrement, puis il est resté stable à $\alpha_D = -50^{\circ},89$. Après trois jours, on a dosé l'excès de potasse et on a trouvé une absorption de 87 mg.,6708 ce qui donne un indice de saponification de 86,9 (théorie 86,2).

La fonction glucosidique résiste à l'action de la potasse à $+105^{\circ}$.

On a porté à $+105^{\circ}$ en tube scellé, pendant une heure, une solution renfermant, pour 30 cm³ : 0 g.,40 de monotropitoside et 2 g. de potasse.

Il ne s'est fait qu'une très légère coloration jaune et le liquide était resté lévogyre $-1^{\circ}16'$. La déviation sans potasse était de $-1^{\circ}36'$.

Dans une autre expérience, on a déterminé la valeur de l'hydrolyse du monotropitoside en dosant l'acide salicylique formé par la méthode de M. BOUGAULT (1) à l'iode et au carbonate de sodium à l'ébullition.

On a fait bouillir sur un bain de chlorure de calcium, un mélange renfermant 2 gr.,0018 de monotropitoside anhydre, 50 cm³ d'eau et 100 cm³ de solution de potasse

(1) J. BOUGAULT. — Sur le procédé de MESSINGER et VORTMANN pour le dosage de quelques phénols. Séparation de l'acide salicylique. *Journ. Pharm. Chim.*, 1908 (6), 28, p. 145.

au dixième et on a distillé de façon à recueillir 50 cm³ en une heure.

Dans le filtrat, on a caractérisé l'alcool méthylique par le bichromate de potassium. Dans le liquide résiduel, on a ajouté de l'acide sulfurique en excès et on a épuisé à l'éther.

Par évaporation de l'éther, on a obtenu un résidu cristallisé qu'on a repris par une solution de carbonate de sodium et qu'on a traité par l'iode en excès, à l'ébullition. Le tétraiododiphénylènequinone formé a été recueilli et pesé. On en a obtenu une quantité correspondant à 0 g.,0017 d'acide salicylique, alors que la quantité de monotropitoside employée doit fournir 0 g.,5953 de cet acide. L'hydrolyse était donc très faible ; elle n'avait porté que sur deux pour cent à peine du glucoside.

Acide salicylique. — En conséquence, pour le dosage de l'acide salicylique contenu dans le monotropitoside à l'état d'éther méthylique, il a fallu d'abord hydrolyser le monotropitoside par un acide, puis saponifier par un alcali le salicylate de méthyle formé et faire le dosage à l'iode sur le liquide alcalin.

On a traité une heure à + 105° en tube scellé 0 gr.,4000 de monotropitoside hydraté par 25 cm³ d'acide sulfurique à 2,4 pour 100. Après refroidissement, on a ajouté 5 cm³ de potasse à 20 pour 100 et on a remis en tube scellé à + 105° pendant une heure. On a neutralisé ensuite par l'acide sulfurique et on a ajouté 25 cm³ de solution de carbonate de sodium à 15 pour 100 et 20 cm³ de solution d'iode à 20 pour 100.

On a recueilli et pesé le tétraiododiphénylènequinone formé, suivant les indications de M. BOUGAULT. On en a obtenu une quantité correspondant à 0 g.,1223 d'acide salicylique (théorie 0 g.,1189).

Pour doser le sucre réducteur formé par hydrolyse

sulfurique, on a traité une heure à $+ 150^{\circ}$, une solution de monotropitoside anhydre à 0 g.,9663 pour 100 cm³ en présence de 3 pour 100 d'acide sulfurique. La rotation a passé de $- 1^{\circ} 12'$ ($l = 2$) à $+ 34'$ et il s'est fait 0 g.,7334 de sucre réducteur exprimé en glucose, soit 75,89 pour 100. L'indice de réduction est de 415 et le pouvoir rotatoire du sucre formé est $\alpha_D = + 38^{\circ},63$.

Hydrolyse fermentaire. — On a dissous dans une quantité suffisante d'eau distillée pour faire 500 cm³ un poids de monotropitoside hydraté correspondant à 4 gr.,910 de produit anhydre. On a ajouté à la solution 5 gr. de poudre fermentaire de *Monotropa Hypopitys* L. En deux minutes à peine, il a commencé à se dégager une odeur très nette et très franche de salicylate de méthyle dont l'intensité est allée en augmentant rapidement.

On a suivi la marche de l'hydrolyse au polarimètre et par dosage du sucre réducteur formé. On a trouvé :

Déviation ($l = 2$)	Sucre réducteur formé dans 100 cm ³	
	en glucose	en primevérose
Avant l'addition du ferment. — $1^{\circ} 12'$		
Après 24 heures. — $22'$	0 g.,2912	0 g.,4493
Après 5 jours. — $4'$	0 g.,3992	0 g.,6160

En 24 heures, pour un changement de déviation de $50'$, il s'est fait 0 g.,2912 de sucre réducteur exprimé en glucose, ce qui donne un indice de réduction enzymolytique de 349. En cinq jours, pour un changement de $1^{\circ} 8'$, la quantité de sucre réducteur formé s'est élevée à 0 g.,3992, soit un indice de 352. L'indice s'est donc maintenu le même pendant toute la durée de l'hydrolyse.

Dans l'essai biochimique de l'extrait de *Betula*

lenta L. (1). M. M. BRIDEL a trouvé que la poudre fermentaire de *Monotropia Hypopitys* L. faisait très rapidement dégager une odeur fortement aromatique dans laquelle dominait celle du salicylate de méthyle, mais il a bien paru que le salicylate de méthyle n'était pas le seul produit aromatique formé. Il avait observé un changement de déviation de 30', en même temps qu'il s'était formé 0 g.,253 de sucre réducteur, soit un indice de 503. Cet indice nettement différent de celui qu'on vient de trouver pour le monotropitoside, 352 ou 349, semble bien montrer également que la poudre fermentaire n'a pas agi que sur le monotropitoside et qu'il y a eu hydrolyse simultanée d'un autre glucoside à indice enzymolytique plus élevé.

La proportion de primevérose formé, en prenant comme pouvoir réducteur de ce sucre, comparé au glucose, 0,648, s'élève à 62,70 p. 100, alors qu'on doit en obtenir 69,95 p. 100 par hydrolyse totale. L'hydrolyse était donc très avancée.

M. M. BRIDEL a extrait le sucre réducteur et l'a identifié avec le primevérose (2).

Pour cela il a essoré la poudre fermentaire et a épuisé le liquide aqueux à l'éther qui a dissous le salicylate de méthyle. Le liquide aqueux a été ensuite évaporé à sec, sous pression réduite, et le résidu a été repris par l'alcool à 90°, à l'ébullition. Le primevérose a cristallisé: M. M. BRIDEL en a obtenu 2 g.,15, qu'il a purifié par de nouvelles cristallisations dans l'alcool à 90°, en présence de noir animal. Le produit pur a été séché dans le vide sulfurique, à poids constant.

Le primevérose du monotropitoside se présente sous forme d'une poudre incolore, cristallisée en lames allon-

(1) M. BRIDEL. — Sur la véritable nature du glucoside à salicylate de méthyle existant dans l'écorce fraîche du *Betula lenta* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, 6, p. 659.

(2) M. BRIDEL. — Sur l'hydrolyse fermentaire du monotropitoside (monotropitine). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, 7, p. 52.

gées et groupées. Il est anhydre. Son point de fusion instantanée au bloc MAQUENNE est de $+ 210^{\circ}$.

Il possède une saveur faiblement sucrée. Il est réducteur. En déterminant son pouvoir réducteur d'après le procédé de M. G. BERTRAND, il a été trouvé que 1 g. réduit comme 0 g.,648 de glucose. C'est le même pouvoir réducteur que pour le primevérose du gentiacauloside (1).

Il possède la mutarotation : dextrogyre au moment de sa solution, il devient lévogyre. Son pouvoir rotatoire stable a été trouvé de : $\alpha_D = - 3^{\circ},79$ ($p = 0,2632$; $v = 10$; $l = 2$: $\alpha = - 12'$).

Il fournit avec l'orcine chlorhydrique à chaud la coloration violet bleu caractéristique des pentoses.

Son indice de réduction par les acides a été trouvé de 473 ; celui du primevérose du gentiacauloside est 483. L'indice théorique est 474, en prenant comme pouvoir rotatoire $\alpha_D = - 3^{\circ},80$, comme pouvoir réducteur 0,648 et comme poids moléculaire 312.

Le pouvoir rotatoire du sucre formé par hydrolyse est de $\alpha_D = + 37^{\circ},99$, le pouvoir rotatoire d'un mélange en proportions équimoléculaires de glucose et de xylose étant $\alpha_D = + 37^{\circ},22$.

Le poids moléculaire du primevérose a été donné par MM. GORIS, MASCRÉ et VISCHNIAC qui ont trouvé, par cryoscopie 294 (2). Ce chiffre est assez voisin du chiffre théorique 312, car on sait que la cryoscopie des sucres réducteurs ne donne pas des résultats précis.

M. M. BRIDEL a déterminé le poids moléculaire du primevérose, en utilisant le procédé de dosage des sucres aldéhydiques indiqué par M. J. BOUGAULT (3) par l'iode et le carbonate de sodium.

(1) M. BRIDEL. — Sur l'hydrolyse fermentaire du gentiacauloside (gentiacauline). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1925, 7, p. 31.

(2) GORIS, MASCRÉ et VISCHNIAC. — Glucosides et essences de Primevère. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1912, 19, p. 589.

(3) J. BOUGAULT. — Nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques. *Journ. Pharm. et Chim.*, (7^e s.), 1917, 16, p. 97.

Le poids moléculaire du sucre est donné par la formule

$$P M = \frac{P \times 2 I}{p}$$

dans laquelle P représente le poids de sucre à oxyder, I le poids atomique de l'iode et p le poids d'iode utilisé.

Pour 0 g.,0945 de primevérose, il a fallu 0 g.,077862 d'iode, d'où

$$P M = \frac{0,0945 \times 254}{0,077862} = 308,2$$

chiffre qui vérifie bien celui indiqué par MM. GORIS MASCRÉ et VISCHNIAC.

Il y a donc, ainsi qu'on l'a vu par l'exposé des propriétés, identité entre le sucre du monotropitoside et le primevérose,

Analyse élémentaire. — On a opéré sur le monotropitoside anhydre séché à l'étuve à + 105°.

Substance :

1	0 g.,2249	CO ² = 0,4138	H ² O = 0,1164
		C = 50,18 p.100	H = 5,75 p. 100
2	0 g.,2491	CO ² = 0,4579	H ² O = 0,1296
		C = 50,13 p.100	H = 5,78 p. 100
3	0 g.,2584	CO ² = 0,4735	H ² O = 0,1354
		C = 49,98 p.100	H = 6,81 p. 100
4	0 g.,1343	CO ² = 0,2468	H ² O = 0,0747
		C = 50,11 p.100	H = 6,18 p. 100

Cryoscopie.

Monotropitoside anhydre.....	0,5719
Eau.....	14,4586
Monotropitoside pour 100 g. d'eau.....	3,9554
A = 0°,17 ;	

$$P M = 18,5 \times \frac{3,9454}{0,17} = 430,4$$

En s'appuyant sur les résultats obtenus ci-dessus, on voit que la formule proposée par M. M. BRIDEL pour

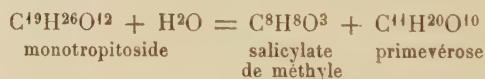
le monotropitoside $C^{19}H^{26}O^{12}$ est bien exacte. Le monotropitoside cristallisé a pour formule $C^{19}H^{26}O^{12}H^2O$ qui exige 3,87 p. 100 d'eau (trouvé 3,84 ; 4,06).

Le tableau suivant résume les résultats expérimentaux et donne en regard les chiffres théoriques :

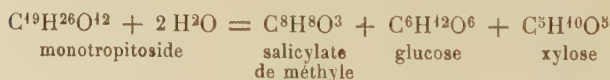
	Trouvé	Calculé pour $C^{19}H^{26}O^{12}$
Carbone pour cent (moyenne).....	50,10	51,12
Hydrogène pour cent (moyenne).....	5,88	5,82
Poids moléculaire.....	430,4	446
Acide salicylique pour cent.....	31,86	30,94
Sucre réducteur pour cent (glucose + xylose).....	75,83	73,99
Primevérose pour cent.	62,70	69,95
Indice de réduction enzymolytique.....	350	350
— par hydrolyse acide..	415	412
Indice de saponification.	86,9	86,2

Le monotropitoside est donc formé de l'union d'une molécule de salicylate de méthyle, d'une molécule de glucose et d'une molécule de xylose, avec élimination de deux molécules d'eau. Le xylose et le glucose se trouvent combinés sous forme de primevérose que l'on obtient à l'état cristallisé par hydrolyse fermentaire.

La formule du monotropitoside est $C^{19}H^{26}O^{12}$. Le dédoublement fermentaire se fait suivant l'équation :



L'hydrolyse par les acides, suivant l'équation :



CHAPITRE IV.

Le primevéroside de l'acide salicylique ⁽¹⁾.

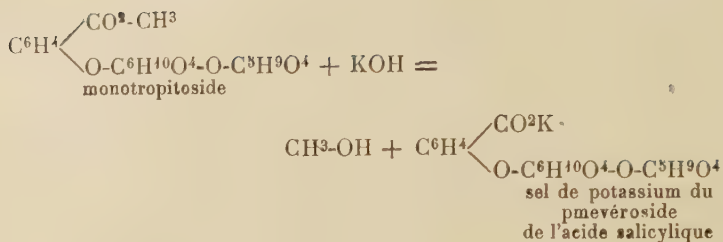
Le primevéroside de l'acide salicylique résulte de la combinaison avec élimination d'une molécule d'eau, d'une molécule de primevérose et d'une molécule d'acide salicylique. Cette combinaison se fait par le groupe réducteur du primevérose et l'oxhydryle phénolique de l'acide salicylique. Ce primevéroside possède donc une fonction acide libre.

Le primevéroside de l'acide salicylique n'a pas été rencontré, jusqu'ici, dans le règne végétal.

Il a été préparé en partant d'un primevéroside naturel, le monotropitoside, primevéroside du salicylate de méthyle qui a fait l'objet du chapitre précédent, par saponification au moyen de la potasse aqueuse, à froid, de la fonction éther sel méthylique existant dans ce principe immédiat.

En étudiant les propriétés du monotropitoside, j'ai signalé qu'en traitant à froid ce produit par la potasse en solution aqueuse, il y avait saponification de la fonction éther sel avec formation d'alcool méthylique et du sel alcalin du primevéroside de l'acide salicylique, la fonction glucoside n'étant pas détruite, suivant l'équation :

(1) M. BRIDEL et P. PICARD. — Sur le primevéroside de l'acide salicylique. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928, **10**, p. 381.



Ces faits nous ont conduit à préparer et à étudier le primevéroside de l'acide salicylique, résultant de l'action de la potasse sur le monotropitoside.

Préparation. — Pour faire la saponification, on a dissous 5 g.,0162 de monotropitoside dans 100 cm³ de potasse à 4 g.,700 de KOH pour 100 cm³. On a laissé l'action de la potasse se prolonger pendant quatre jours, à froid, on est sûr ainsi que la saponification est complète. En effet, dans le chapitre précédent, nous avons vu qu'en dissolvant le monotropitoside dans une solution aqueuse de potasse, l'indice de saponification observé, après trois jours était de 86,9, alors que l'indice théorique était de 86,2.

La saponification terminée, il convenait de mettre en liberté le primevéroside de l'acide salicylique et de le séparer de la potasse en excès. Nous y sommes parvenus de deux façons :

1° On neutralise la potasse en excès par l'acide acétique et on ajoute 15 cm³ d'extrait de Saturne : le sel de plomb du primevéroside se précipite, peu soluble dans l'eau. On l'essore et on le lave à l'alcool à 60°, on le met en suspension dans l'eau et on le décompose au moyen de l'hydrogène sulfuré. On sépare le sulfure de plomb de la solution de primevéroside de l'acide salicylique et on évapore cette solution à sec, sous pression réduite. On reprend le résidu par l'acétone à l'ébullition. Par concentration de l'acétone et addition d'éther, le primevéroside cristallise.

Le rendement est faible, à cause de la solubilité relative du sel de plomb dans l'eau. Le deuxième procédé donne un rendement meilleur de 20 pour 100.

2° On ajoute à la solution alcaline une quantité exactement calculée d'acide sulfurique pour transformer la totalité de la potasse en sulfate de potassium, puis on distille, sous pression réduite, sans dépasser $+ 50^{\circ}$. Le résidu, formé de sulfate de potassium et du primevéroside, est repris par l'alcool à 95° à chaud dans lequel le sulfate de potassium est insoluble.

L'alcool est distillé et le résidu repris à l'ébullition par de l'acétone anhydre : le primevéroside de l'acide salicylique cristallise par refroidissement. En partant de 5 grammes de monotropitoside, on a obtenu 1 gramme de produit pur.

Propriétés physiques. — Le primevéroside de l'acide salicylique cristallise en fines aiguilles incolores. Il est inodore et présente une saveur très amère.

Il ne possède pas de point de fusion net et se décompose vers $+ 150^{\circ}$ au bloc MAQUENNE.

Séché dans le vide à $+ 50^{\circ}$, il perd 1,42 pour 100 de son poids : perte de 0 g.,0055 sur 0 g.,3865, en trois heures.

Son pouvoir rotatoire a été déterminé sur le produit ainsi desséché.

On a trouvé : $\alpha_D = -61^{\circ},60$ ($p = 0,6155$; $v = 25$; $l = 2$; $\alpha = -3^{\circ}2'$).

Propriétés chimiques. — Il n'est pas réducteur. En solution aqueuse, il est acide au tournesol et décompose le bicarbonate de sodium. Son indice d'acidité a été déterminé en présence de phénolphtaléine. On a trouvé 122, alors que l'indice théorique est de 129.

Avec l'orcine chlorhydrique, il donne, à chaud, la réaction caractéristique des pentoses.

Traité, en poudre, par l'acide sulfurique concentré, il se colore en rose. En solution aqueuse, il précipite par addition d'extrait de Saturne, mais le précipité n'est pas cristallisé. Le perchlorure de fer est sans action.

Hydrolyse sulfurique — On a hydrolysé pendant une heure, à $+ 105^{\circ}$ une solution renfermant, pour 100 cm³, 0 g.,5446 de primevéroside de l'acide salicylique et 3 g.,5 d'acide sulfurique. A l'ouverture du tube, on n'a perçu aucune odeur de salicylate de méthyle. La rotation de la solution avait passé de $- 0^{\circ},712$ à $+ 0^{\circ},250$ ($l = 2$) et il s'est formé pour 100 cm³, 0 g.,3967 de sucre réducteur exprimé en glucose, soit une proportion de 72,84 pour 100 (théorie : 76,38).

Le pouvoir rotatoire du sucre formé est $\alpha_D = + 31^{\circ},50$; un mélange équimoléculaire de xylose et de glucose a un pouvoir rotatoire de $\alpha_D = + 37^{\circ}$. L'indice de réduction que l'on calcule avec ces données est de 412 (théorie 424).

L'acide salicylique a été caractérisé en agitant à l'éther le liquide d'hydrolyse sulfurique. Par évaporation* de l'éther il est resté un résidu cristallisé donnant en solution aqueuse, par le perchlorure de fer, une coloration violette ne disparaissant pas par agitation de l'éther.

Hydrolyse diastasique. — L'hydrolyse du primevéroside de l'acide salicylique est lente avec la rhamnodiastase, que l'on opère sur la solution aqueuse du primevéroside, libre ou à l'état de sel de calcium.

1° On a fait agir 0 g.,10 de rhamnodiastase sur 15 cm³ d'une solution de primevéroside à 1 g.,4566 pour 100 cm³. En sept jours, 39 pour 100 du primevéroside étaient hydrolysés.

2° On a neutralisé par addition de carbonate de calcium 25 cm³ de solution de primevéroside de l'acide salicylique à 2 g.,4620 pour 100 cm³ et on a ajouté 0 g.,30 de rhamno-

diastase. On a dosé le sucre réducteur le 7^e jour et le 34^e jour. On a obtenu les résultats suivants :

	Sucre réducteur (en glucose)
Hydrolyse totale.	1 g.,1520 pour 100 cm ³
Après 7 jours.	0 g.,3261 —
Après 34 jours.	0 g.,8883 —

On a laissé l'hydrolyse se prolonger encore sept jours et on a caractérisé dans le liquide le primevérose et l'acide salicylique.

Le liquide a été déféqué par l'extrait de Saturne. On a essoré et on a mis le filtrat clair de côté. Le précipité a été traité par un excès d'acide sulfurique au dixième et on a épuisé le mélange à l'éther. Par évaporation de l'éther, on a obtenu un résidu cristallisé, acide, qu'on a traité par le carbonate de sodium et l'iode, de façon à caractériser l'acide salicylique à l'état de tétraiododiphénylènequinone, suivant les indications de M. BOUGAULT (1). On a obtenu le précipité rouge caractéristique de l'acide salicylique.

On a caractérisé le primevérose dans le liquide déféqué à l'extrait de Saturne. On a éliminé l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré et on a filtré. Le liquide limpide a été distillé à sec, sous pression réduite. On a repris le résidu par l'alcool à 90° à l'ébullition. Après refroidissement, on a ajouté deux volumes d'éther : le primevérose a cristallisé en cristaux caractéristiques qu'on a recueillis.

En solution aqueuse, il donne avec l'orcine chlorhydrique, la réaction caractéristique des pentoses.

On a déterminé son pouvoir réducteur d'après le procédé de M. G. BERTRAND. Avec 0 g.,0515, on a obtenu 64 mg.,33185 de cuivre, ce qui correspond à 32 mg.,851 de glucose, 1 gramme réduit comme 0,637 de glucose (théorie 0,648).

(1) Sur le procédé de MESSINGER et VORTMANN pour le dosage de quelques phénols. Séparation de l'acide salicylique *Journ. Pharm. et Chim.* (6), 1908, 28, p. 145.

En résumé, quand on traite le monotropitoside à froid, par une solution aqueuse de potasse, il y a saponification de la fonction éther sel et formation du sel de potassium du primevéroside de l'acide salicylique.

Ce primevéroside, qui n'a pas encore été rencontré dans la nature, a été obtenu à l'état pur et cristallisé. Il est lévogyre : $\alpha_D = -61^{\circ},60$. Par hydrolyse sulfurique, il fournit de l'acide salicylique et un mélange équimoléculaire de xylose et de glucose.

Par hydrolyse au moyen de la rhamnodiastase, il donne de l'acide salicylique et du primevérose.

CHAPITRE V.

Le Violutoside, nouveau glucoside à salicylate de méthyle extrait du *Viola cornuta* L. ⁽¹⁾

Extraction.— J'ai dû opérer sur de très grosses quantités de plantes fraîches, le rendement étant extrêmement faible : pour 8 kilogrammes de plantes récoltées le 8 et le 16 octobre 1924, à Versailles, on a obtenu 0 g.,12 de glucoside, et pour 30 kilogrammes récoltés le 30 octobre et le 3 novembre 1925, à la Celle-Saint-Cloud, on a pu recueillir 0 g.,44 de produit.

Ce traitement a été rendu possible grâce à l'appareil imaginé par Em. BOURQUELOT et M. H. HÉRISSEY (2).

On projette les plantes fraîches dans de l'alcool bouillant le lendemain de leur récolte ; on maintient l'ébullition pendant 20 minutes ; on les sépare du liquide, on les broye, puis on les traite à nouveau par l'alcool. Onessore et on distille la solution pour éliminer l'alcool. On fait un extrait avec le liquide aqueux en le distillant sous pression réduite. On épuise cet extrait à quatre reprises, par de l'éther acétique hydraté. On réunit ces solutions et on les

(1) P. PICARD. — Le violutoside, nouveau glucoside à salicylate de méthyle retiré du *Viola cornuta* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, **6**, p. 597.

(2) BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Appareil destiné au traitement des plantes fraîches par l'alcool bouillant. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), 1911, **3**, p. 145.

concentre. Le nouvel extrait obtenu est repris par l'eau ; on élimine la chlorophylle émulsionnée en agitant avec du carbonate de calcium et on filtre.

On défèque la solution au sous-acétate de plomb. On essore le précipité et on élimine l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré. Après séparation du sulfure de plomb, on a une solution légèrement teintée en jaune, que l'on concentre en la distillant sous pression réduite sans dépasser $+ 50^{\circ}$ pour éviter l'action de l'acide acétique formé sur le glucoside.

L'extrait est traité plusieurs fois par de l'éther acétique anhydre. C'est dans ces liquides que se forment les premiers cristaux de glucoside impur.

Pour 8 kilogrammes de plantes, on a obtenu 0 g.,12 de glucoside, et pour 30 kilogrammes, 0 g.,44, ce qui fait un rendement voisin de 0 g.,015 de glucoside impur par kg. de plante fraîche.

Purification. — Pour purifier ce produit, on en a traité 0 g.,42 par 40 cm³ d'acétone anhydre à l'ébullition avec du noir animal. Par refroidissement de la solution filtrée, complètement incolore, on a obtenu 0 g.,23 de cristaux tout à fait blancs. En précipitant la solution par l'éther, on a pu recueillir encore 0 g.,06 de produit, ce qui fait 0 g.,29 de glucoside pur pour 30 kilogrammes de plante, soit un rendement de 0 g.,01 à peine par kilogramme de plante fraîche.

Le glucoside du *Viola cornuta* L., contrairement à notre attente, n'est pas identique au monotropitoside, comme on le verra par l'exposé de ses propriétés. C'est un glucoside nouveau, pour lequel je propose le nom de *violutoside* rappelant son origine.

Toute cette étude a été faite sur les 29 centigrammes obtenus,

Propriétés physiques.— Le violutoside cristallisé dans l'acétone se présente en longues aiguilles fines, parfois réunies en houppes. Il est inodore et possède une saveur très amère.

On a déterminé la teneur en eau du produit cristallisé dans l'acétone en le desséchant dans l'appareil de M. BOUILLOT, dans le vide à $+ 50^{\circ}$. 0 g., 1936 ont perdu en 6 heures, 0 g., 0066, soit 3,40 p. 100.

Il fond nettement au bloc MAQUENNE à $+ 168^{\circ}, 5$.

Le pouvoir rotatoire du violutoside à 2,84 p. 100 d'eau est de $\alpha_D = - 35^{\circ}, 18$ ($p = 0$ g., 1876 ; $v = 10$; $l = 2$; $x = - 1^{\circ}, 32$) ; on calcule pour le produit anhydre : $\alpha_D = - 36^{\circ}, 20$.

Propriétés chimiques. — Le violutoside se colore en rose vif par addition d'acide sulfurique concentré ; il se dégage immédiatement une odeur très nette de salicylate de méthyle, perceptible avec de très faibles quantités de glucoside.

Le violutoside n'est pas réducteur. L'extrait de Saturne ne le précipite pas de sa solution aqueuse. Il ne donne pas de coloration par addition de perchlorure de fer dans ses solutions.

Caractérisation des pentoses. — En dissolvant le violutoside dans l'acide chlorhydrique concentré et chauffant à l'ébullition en présence d'orcine, on obtient une belle coloration bleu violet, réaction caractéristique des pentoses.

Hydrolyse sulfurique. — 18 cm³, 9 d'une solution aqueuse renfermant, pour 100 cm³, trois grammes d'acide sulfurique et 0 g., 9114 de violutoside anhydre ($\alpha = - 0^{\circ}, 66$ pour $l = 2$) ont été portés une heure à $+ 105^{\circ}$, en tube scellé. Au sortir de l'autoclave, la solution était trouble, puis elle s'est éclaircie peu à peu, en même temps qu'il s'est déposé des gouttelettes plus lourdes au fond du tube. En

ouvrant le tube, on a constaté une très forte odeur de salicylate de méthyle.

En examinant la solution au polarimètre, on trouve que la rotation a passé de $-0^{\circ},66$ à $+0^{\circ},989$. On a dosé le sucre réducteur formé, on en a trouvé 0 g.,6903 exprimé en glucose, pour 100 cm³ de solution, ce qui correspond à 75,74 pour 100 de glucoside. L'indice de réduction est alors de 418.

Dosage de l'acide salicylique. — Ce dosage a été effectué suivant les indications de M. BOUGAULT (1) en formant le tétraiododiphénylènequinone par addition d'iode et de carbonate de sodium.

Au liquide hydrolysé par l'acide sulfurique, on ajoute un excès de potasse caustique et on porte une heure à l'autoclave à $+105^{\circ}$. L'opération terminée, on constate que l'odeur du salicylate de méthyle a totalement disparu, ce qui prouve qu'il a été entièrement saponifié.

Après refroidissement, on neutralise par l'acide sulfurique et on ajoute 25 cm³ de carbonate de sodium en solution à 15 pour 100 et 20 cm³ de solution d'iode iodurée à 20 pour 100. On recueille et on pèse le tétraiododiphénylènequinone formé. On en a obtenu une quantité correspondant à 0 g.,0538 d'acide salicylique pour 0 g.,1722 de glucoside, ce qui fait que le violutoside renferme 31,14 pour 100 d'acide salicylique.

En comparant les propriétés de ce glucoside avec celles du monotropitoside, on constate les différences suivantes :

Le violutoside fond à $+168^{\circ},5$, le monotropitoside à $+179^{\circ},5$; le pouvoir rotatoire spécifique du violutoside anhydre a été trouvé de $\alpha_D = -36^{\circ},20$, celui du monotropitoside anhydre est de $\alpha_D = -61^{\circ},06$.

(1) Sur le procédé de MESSINGER et VORTMANN pour le dosage de quelques phénols. Séparation de l'acide salicylique. *Jour. Pharm. Chim.*, 1908 (6), 28, p. 145.

Par hydrolyse acide, ils fournissent tous les deux la même quantité de sucre réducteur exprimé en glucose (75, 83 pour 100 et 75,74 pour 100) et par saponification la même quantité d'acide salicylique (31,86 pour 100 et 31,24 pour 100). Que le pentose contenu dans la molécule de ces glucosides soit le xylose ou l'arabinose *l*, on calcule que le sucre réducteur, exprimé en glucose, y entre pour 73,99 pour 100 et l'acide salicylique pour 30,94 pour 100. Les résultats expérimentaux étant tout à fait voisins de ces chiffres, on peut être sûr d'avoir à faire à un produit pur.

On a trouvé que, pour 0 g.,6903 de sucre réducteur formé après hydrolyse sulfurique d'une solution à 0 g.,9114 pour 100 cm³ de violutoside, la déviation avait passé de $-0^{\circ},66$ à $+0^{\circ},989$, soit un indice de 418. Pour un mélange équimoléculaire de glucose et de xylose, on calcule que la déviation produite par 0 g.,6743 (sucre théorique pour 0 g.,9114 de glucoside) de sucre exprimé en glucose aurait été de $\alpha = +0^{\circ},431$, l'indice étant 618. Les résultats sont donc en discordance complète avec cette hypothèse.

Mais si l'on admet que le violutoside est constitué par une molécule de salicylate de méthyle combinée avec une molécule de glucose et une molécule d'arabinose *l* avec élimination de deux molécules d'eau, on calcule que 0 g.,9114 de glucoside fournissent après hydrolyse 0 g.,6743 de sucre réducteur et la déviation serait alors de $\alpha = +1^{\circ},013$ ce qui donne un indice de 403. Les résultats sont donc en concordance absolue avec cette théorie. L'hydrolyse fermentaire est en accord complet avec cette manière de voir, les deux sucres restant dans ce cas, combinés entre eux.

Rappelons que l'on ne connaît jusqu'ici qu'un sucre formé d'arabinose *l* et de glucose, le vicianose de MM. G. BERTRAND et G. WEISWEILLER (1), qui a été retrouvé

(1) G. BERTRAND et G. WEISWEILLER. — Le vicianose, nouveau sucre réducteur en C¹¹. *Bull. Soc. Chim.* 1911, (4), 9, p. 38.

récemment par MM. H. HÉRISSEY et J. CHEYMOL comme sucre d'hydrolyse fermentaire du géoside (1).

Hydrolyse fermentaire. — Dans un tube à essai, on a pesé une quantité de glucoside hydraté correspondant à 0 g.,05226 de glucoside anhydre, on a ajouté 5 cm³ d'eau toluénée, puis 0 g.,10 de poudre fermentaire de *Cornus sanguinea* L. On a constaté qu'il se dégagait assez rapidement une odeur de salicylate de méthyle. On a scellé le tube et on a laissé l'action se prolonger pendant 28 jours à l'étuve à + 30°.

À l'ouverture du tube, on a ajouté 2 cm³ d'extrait de Saturne dilué au demi, puis 3 cm³ de solution de sulfate de sodium au dixième, ce qui fait que 100 cm³ de cette solution correspondent à 0 g.,5226 de glucoside anhydre.

Après filtration, on a constaté une déviation droite de + 0°,310 et on a trouvé que 100 cm³ de solution renferment 0 g.,2140 de sucre réducteur exprimé en glucose.

Le pouvoir rotatoire du glucoside anhydre étant de $\alpha_D = -36°,20$, on calcule qu'avant hydrolyse, la déviation de la solution était de $\alpha = -0°,378$. Le changement produit est donc de 0°,688 et l'indice de réduction enzymologique est égal à 311.

Ces résultats sont en désaccord avec la formation de primevérose, puisque, dans ce cas, on aurait dû obtenir une déviation sensiblement nulle ou très faiblement lévogyre, le pouvoir rotatoire du primevérose étant de $\alpha_D = -3°,80$.

Ils sont en accord avec la formation de vicianose. En effet, si on calcule le sucre réducteur en vicianose (un gramme réduit comme 0 g.,600 de glucose), on trouve 0 g.,3566 pour 100 cm³, soit un rendement de 68,23 p. 100.

(1) H. HÉRISSEY et J. CHEYMOL. — Sur les sucres fournis par la géine (géoside) ; obtention de vicianose par l'hydrolyse fermentaire de ce glucoside. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, 8, p. 50.

En supposant l'hydrolyse totale, il doit se former 0 g.,3639 de vicianose, soit 69,64 p. 100; la déviation doit être de $+ 0^{\circ},280$ (α_D du vicianose $+ 38^{\circ},38$) et l'indice de réduction enzymolytique 331. Comme on a trouvé 0 g.,3566, soit 68,23 p. 100 et une déviation de $+ 0^{\circ},310$ et un indice de 311 la concordance est excellente.

Comme le monotropitoside, le nouveau glucoside est formé par l'union d'une molécule de salicylate de méthyle et d'une molécule d'un hexopentose. Mais le pentose du violutoside n'est pas du xylose. La seule différence entre le monotropitoside et le violutoside porte donc sur le pentose.

Les résultats obtenus sont en faveur de la présence de l'arabinose *l* qui serait combiné au glucose sous la forme de vicianose.

On aurait ainsi obtenu le troisième vicianoside connu, les deux premiers étant le vicianoside (1) glucoside cyanhydrique extrait des semences de *Vicia angustifolia* Roth, par MM. G. BERTRAND et G. WEISWEILLER, en 1910, et le géoside, glucoside à eugénol (2) obtenu à l'état cristallisé par MM. H. HÉRISSEY et J. CHEYMOL, en 1925.

Mais il est bien évident que pour affirmer cette constitution avec certitude, il faudrait séparer le vicianose des produits d'hydrolyse fermentaire du violutoside. Dans ce but, je m'étais procuré 124 kg. de *Viola cornuta* L., en mai et juin 1926, espérant extraire environ un gramme de violutoside, quantité qui aurait pu suffire à caractériser le vicianose après hydrolyse. Bien qu'ayant obtenu des liquides ayant une déviation gauche assez forte, il a été

(1) G. BERTRAND et G. WEISWEILLER. — Sur la constitution de la vicianine. *Bull. Soc. Chim.* 1910, (4), 7, 1046.

(2) H. HÉRISSEY et J. CHEYMOL. — Extraction et propriétés de la géine glucoside générateur d'eugénol, contenu dans le *Geum urbanum* L. *Comptes-Rendus*, 1925, 180, 384.

impossible de faire cristalliser le glucoside. Il faut, probablement attribuer cet échec à ce que, l'été, la plante renferme des principes qu'on n'a pu éliminer et qui s'opposent à la cristallisation du glucoside, tandis que, les années précédentes, j'avais opéré en automne,

CHAPITRE VI.

Présence de la polygalite dans les tiges foliées du *Polygala vulgaris* L. ⁽¹⁾.

BOURQUELOT, en 1894, avait signalé l'existence d'un glucoside générateur du salicylate de méthyle dans le *Polygala vulgaris* L. (2). On sait, en effet, qu'en froissant entre les doigts une partie de la racine, il se dégage une odeur de salicylate de méthyle qui est à peine perceptible dans les parties aériennes de la plante. La trop petite quantité de glucoside contenue dans les tiges et les feuilles, et la difficulté qu'il y a, à se procurer une quantité suffisante de racine, n'a pas permis d'obtenir ce principe.

Mais, au cours de ces recherches, j'ai obtenu une certaine quantité d'un produit cristallisé, qui est vraisemblablement la polygalite signalée par CHODAT en 1888, dans le *Polygala amara* L. (3) et étudiée

(1) P. PICARD. — Sur un principe cristallisé retiré du *Polygala vulgaris* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1924, 6, p. 597.

Sur la présence de la polygalite dans les tiges foliées du *Polygala vulgaris* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, p. 692.

(2) BOURQUELOT. — Sur la présence de l'éther méthylsalicylique dans quelques plantes indigènes. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1894, (5), 30, p. 433.

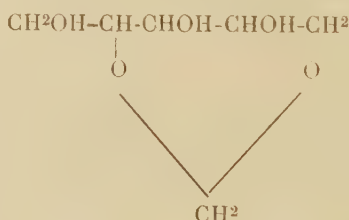
(3) CHODAT. — La polygalite dans *P. amara*. *Arch. des Sc. Phys. et Nat. de Genève*, 1888, 20, p. 593 ; 1887, 18, p. 228 ; 1888, 19, p. 290.

par M. JONKHEER, P. J. TEDING, VAN BERKHOUT (1) en 1918.

La polygalite est un produit cristallisé fondant à $+ 141^{\circ}$ - 142° , très soluble dans l'eau, moins soluble dans l'alcool et l'éther, de pouvoir rotatoire spécifique dextrogyre : $\alpha_D = + 40^{\circ},74$ à $+ 41^{\circ},50$ (moyenne : $+ 41^{\circ},06$). Son poids moléculaire déterminé par cryosopie est de 158-161. L'analyse élémentaire apprend que la polygalite ne contient pas d'azote et plusieurs dosages de carbone et d'hydrogène donnent les résultats moyens suivants : C = 43,48 pour 100 ; H = 7,36 pour 100. L'auteur lui attribue la formule suivante : $C^{61}H^{12}O^5 = 164$ pour laquelle on calcule : C = 43,88 pour 100 et H = 7,37 pour 100.

La polygalite n'est pas réductrice ; ce n'est pas un méthylpentose, et elle se rapprocherait des alcools polyvalents.

Après avoir opéré plusieurs acétylations, l'auteur a été amené à conclure à l'existence, dans la molécule de la polygalite, de trois hydroxyles seulement substituables par des radicaux acétyle et pense, sous toutes réserves pouvoir lui attribuer la constitution suivante :



Extraction. — On a d'abord opéré sur 350 grammes de plantes récoltées les 24 et 31 mai à Lardy (Seine et Oise) qui ont fourni 3 grammes environ d'un produit cristallisé,

(1) JONKHEER, P. J. TEDING VAN BERKHOUT. — Étude d'une substance sucrée du *Polygala amara* (anct.) (*P. amarella* CRANTZ). Université de Genève. Faculté des Sciences, Thèse Doctorat ès-sciences Physiques, Thèse n° 614, 1918.

puis sur 850 grammes de plantes privées de leurs racines, récoltées en juillet et août 1924 à Versailles, desquelles on a pu extraire 19 grammes de produit.

On projette ces plantes dans l'alcool bouillant, le lendemain de leur récolte, en maintenant l'ébullition pendant vingt minutes. On les sépare du liquide, puis on les traite à nouveau par l'alcool. On essore les plantes et on distille la solution pour éliminer l'alcool. On lave le liquide aqueux à l'éther. On fait ensuite un extrait en distillant sous pression réduite.

On reprend par l'eau et on défèque la solution au sous-acétate de plomb. On essore le précipité et on élimine l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré. Après séparation du sulfure de plomb, on a une solution presque incolore qu'on distille dans le vide sans dépasser + 50°. On lave l'extrait à l'éther et on reprend par l'alcool à 95° à l'ébullition.

Par refroidissement, on a obtenu pour 850 grammes : 12 g.,50 de cristaux. On concentre la solution alcoolique et l'extrait obtenu est traité à plusieurs reprises par l'éther acétique anhydre à l'ébullition, qui laisse cristalliser par refroidissement 6 g.,50 de produit, soit 19 g. pour 850 g. de plantes fraîches.

Purification. — On reprend le produit par l'alcool à 95° et on fait bouillir quelques minutes avec du noir animal. Par refroidissement, la solution filtrée laisse déposer pour 14 g. de substance impure, 9 g.,70 de cristaux tout à fait incolores.

Propriétés physiques. — Le produit obtenu se présente en petites aiguilles fines, parfois réunies en houppes. Il est inodore et possède une saveur légèrement sucrée.

En le soumettant dans l'appareil de BOUILLOT à + 55° dans le vide pendant 2 h.30, on a constaté qu'il ne perdait

pas de son poids ; il ne renferme pas d'eau de cristallisation.

On a déterminé son point de fusion au tube capillaire ; on trouve qu'il fond à $+142^{\circ},7$ (corr.) Au bloc de MAQUENNE il fond instantanément à $+142^{\circ},5$.

Maintenu dix minutes fondu à $+170^{\circ}$ sur le bloc, il brunit sans se sublimer.

Il est très soluble dans l'eau. L'alcool à 95° le dissout abondamment à l'ébullition, alors qu'à la température ordinaire il n'en dissout que très peu.

L'éther acétique n'en dissout que des traces.

En solution aqueuse, il est neutre aux réactifs colorés et ne donne pas de coloration avec le perchlorure de fer.

En solution alcoolique, il y a sous l'action du perchlorure de fer, formation d'une légère teinte jaune.

Le pouvoir rotatoire spécifique est de :

$$\alpha_D = +41^{\circ},10 \quad (p=0,3974 ; \nu=20 ; l=2 ; \alpha = +1^{\circ}38')$$

Propriétés chimiques. — Le produit ne réduit pas la liqueur cupro-alkaline. L'extrait de Saturne ne le précipite pas de sa solution aqueuse.

L'acide sulfurique à 3 pour 100, à $+100^{\circ}$, est sans action sur ce produit.

Il n'est pas azoté.

Analyse élémentaire. Cryoscopie. — Dans une analyse effectuée en juin 1924 on a trouvé :

$$C = 43,29 \text{ pour cent.}$$

$$H = 6,75 \text{ pour cent.}$$

La détermination cryoscopique du poids moléculaire a été faite en solution dans l'eau. Elle a donné les résultats suivants :

• Substance.....	0 g.,3974
Eau.....	19 g.,7486
Substance pour 100 g. d'eau.....	2 g.,0122
A.....	0°,25

$$M = 18,5 \times \frac{2,0112}{0,25} = 148,9$$

Dans le tableau suivant, nous résumons les propriétés indiquées pour la polygalite et celles du produit retiré du *Polygala vulgaris* L.

Propriétés	Polygalite	Produit du <i>P. vulgaris</i> L.
Point de fusion.....	+ 141°-142°	+ 142°,5-142°,7
Pouvoir rotatoire....	+ 41°,06	+ 41°,10
Carboné pour 100	43,48	43,29
Hydrogène pour 100..	7,36	6,75
Poids moléculaire....	158-161	149
Action sur liqueur cu-proalcaline.....	pas de réduction	pas de réduction
Action de l'acide sulfurique à 3 p. 100..	sans action	sans action

En résumé, même pouvoir rotatoire, même point de fusion, même teneur en carbone, teneur en hydrogène un peu plus faible. Il y a sans aucun doute identité entre le produit extrait du *Polygala vulgaris* L. et celui que CHODAT a extrait du *Polygala amara* L. en 1888 et que VAN BERKHOUT a étudié en 1918 (1).

(1) La racine de *Polygala Senega* L. ne renferme pas de polygalite. Nous avons examiné la teinture de polygala du Codex au polarimètre, elle dévie légèrement à droite la lumière polarisée. Mais l'extrait obtenu en concentrant la teinture repris par l'éther acétique est presque sans action sur la lumière polarisée.

CHAPITRE VII.

Conclusions.

Les conclusions que l'on peut tirer du présent travail sont les suivantes :

1° La méthode biochimique de recherches des glucosides à l'invertine, l'émulsine, les poudres fermentaires renfermant de la primevérosidase qui hydrolyse les primevérosides, appliquée au *Polygala vulgaris* L. et à quelques espèces du genre *Viola*, n'a pas permis de démontrer l'existence du salicylate de méthyle à l'état glucosidique dans ces plantes. Ce principe y existe, en effet, en proportion si faible que les changements de déviation et le sucre réducteur produits par son dédoublement sont insuffisants pour permettre de conclure. Mais la présence d'un glucoside générateur de l'éther méthylsalicylique y est suffisamment démontrée dans la plupart d'entre elles par ce fait que l'odeur ne se dégage qu'après avoir froissé un instant une partie de la plante.

Cependant la méthode biochimique donne une indication intéressante sur la composition des tiges foliées du *Polygala vulgaris* L. La rotation initiale droite est assez élevée ($+ 4^{\circ}16'$) et elle reste supérieure à $+ .3^{\circ}$ après action de l'invertine, ce qui conduit à soupçonner l'existence d'un principe dextrogyre non hydrolysable par l'invertine et que nous avons pu isoler et identifier,

2° Le monotropitoside, premier glucoside à salicylate de méthyle dont la constitution a été déterminée certainement et qui a été rencontré dans six espèces végétales appartenant à quatre familles différentes : *Monotropa Hypopitys* L., *Betula lenta* L., *Spiræa Ulmaria* L., *S. Filipendula* L., *S. gigantea* var. *rosea* et *Gaultheria procumbens* L., résulte de l'union d'une molécule d'éther méthylsalicylique et d'une molécule de primevérose avec élimination d'une molécule d'eau, le primevérose étant constitué par la combinaison d'une molécule de glucose et d'une molécule de xylose avec élimination d'une molécule d'eau.

Par hydrolyse acide, on obtient du salicylate de méthyle d'une part, du xylose et du glucose d'autre part.

Par hydrolyse fermentaire, on a du salicylate de méthyle et du primevérose.

Sa formule est représentée par $C^{19}H^{26}O^{12}$. Il fond à $+ 179^{\circ},5$ et son pouvoir rotatoire est de $\alpha_D = - 58^{\circ},74$ pour le produit hydraté.

3° La fonction glucosidique du monotropitoside résiste à l'action des alcalis, ce qui permet de préparer le primevéroside de l'acide salicylique, la potasse saponifiant la fonction éther méthylique. Nous avons obtenu ce primevéroside à l'état cristallisé. Il est lévogyre, son pouvoir rotatoire est de $\alpha_D = - 61^{\circ},60$. Il ne possède pas de point de fusion net.

Par hydrolyse sulfurique, on obtient de l'acide salicylique et un mélange équimoléculaire de xylose et glucose. Par hydrolyse fermentaire, il fournit de l'acide salicylique et du primevérose.

4° Il existe un autre glucoside à salicylate de méthyle extrait du *Viola cornuta* L., différent du monotropitoside, le violutoside, et qui résulte probablement de l'union d'une molécule de salicylate de méthyle avec une molécule de

vicianose et élimination d'une molécule d'eau, le vicianose étant constitué par la combinaison d'une molécule d'arabinose *l* avec une molécule de glucose et élimination d'une molécule d'eau. Nous n'avons pu obtenir une quantité de violutoside suffisante pour extraire le sucre d'hydrolyse fermentaire, ce qui ne nous permet pas d'affirmer cette constitution.

Le violutoside fond à $+ 168^{\circ},5$ et son pouvoir rotatoire est de $\alpha_D = - 36^{\circ},20$ pour le produit anhydre.

5° Dans le *Polygala vulgaris* L. il a été impossible d'isoler le glucoside à salicylate de méthyle qui y existe en trop faible quantité, mais nous avons pu extraire un produit de pouvoir rotatoire $\alpha_D = + 41^{\circ},10$, fondant à $+ 142^{\circ},5$, de saveur sucrée, ne réduisant pas la liqueur cupro-alkaline, sur lequel l'acide sulfurique reste sans action, et qui est identique à la polygalite que CHODAT a extraite du *Polygala amara* L. en 1888 et que VAN BERKHOUT a étudiée en 1918.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,

J. BOUGAULT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,

M. RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLETY.

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION.....	7
CHAPITRE I. — Les glucosides à salicylate de méthyle...	11
— II. — Essais biochimiques de quelques plantes à salicylate de méthyle	19
— III. — Le monotropitoside.....	25
— IV. — Le primevéroside de l'acide salicylique. .	37
— V. — La violutoside, nouveau glucoside à salicylate de méthyle, extrait du <i>Viola</i> <i>cornuta</i> L.....	43
— VI. — Présence de la polygalite dans les tiges foliées du <i>Polygala vulgaris</i> L.....	51
— VII. — Conclusions.....	57

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
